蜜蜂上颚腺及其分泌物研究进展

吴雨祺，蔺哲广，郑火青*，胡福良

(浙江大学动物科学学院，杭州 310058)

摘要：上颚腺是蜜蜂重要的外分泌腺体，其分泌物是维系蜂群社会性结构的重要物质。蜂王和工蜂上颚腺分泌物合成均以硬脂酸为合成前体，但在脂肪酸的β-氧化过程中表现出级型差异性，导致分泌物组分比例不同。蜂王上颚腺分泌物以9-羰基-2癸烯酸(9-ODA)为主，有吸引工蜂和雄蜂、抑制工蜂卵巢发育等作用；工蜂上颚腺分泌物以10-羟基-2癸烯酸(10-HDA)和10-羟基癸酸(10-HDAA)为主，是蜂王浆的重要组成部分。同时，这种具备典型级型差异的分泌物组成又具有级型间可塑性，在不同蜂种间也存在区别。近年来在转录水平和蛋白水平的一些研究进一步揭示了级型间差异的分子基础。针对蜜蜂上颚腺及其分泌物的研究在蜜蜂生物学、行为学和蜂产品质量控制等方面具有重要的意义。本文通过总结国内外相关研究进展，旨在为上颚腺分泌物的作用机制、生物合成机制等领域的进一步深入研究提供借鉴。

关键词：蜜蜂；上颚腺分泌物；脂肪酸；级型差异；生物合成途径

中图分类号：Q965　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2015)08-0911-08

Research progress in honeybee mandibular glands and their secretions

WU Yu-Qi, LIN Zhe-Guang, ZHENG Huo-Qing*, HU Fu-Liang (College of Animal Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: Mandibular gland is an important honeybee exocrine gland. Its secretions are of great importance in maintaining the social organization of honeybee colony. Stearic acid is used as the synthetic precursor in biosynthesis pathways of both queen and worker mandibular gland secretion, but the caste differences in the following fatty acid β-oxidation process lead to the different proportions of components of mandibular gland secretions between castes. Queen mandibular gland secretion mainly consists of 9-oxo-2-decenoic acid (9-ODA) and possesses multiple functions including attracting workers and drones, inhibiting activation of worker ovaries, *etc*. Worker mandibular gland secretion is dominated by 10-hydroxy-2-decenoic acid (10-HDA) and 10-hydroxydecanoic acid (10-HDAA), and constitutes an important part of royal jelly. This caste specificity in the mandibular gland secretion composition is not only a rigid trait but also shows plasticity within the female phenotype and difference between species. The researches at the transcriptional and protein levels in recent years further revealed the molecular basis of this caste difference. Researches about mandibular glands are of great significance to the studies of such areas as honeybee biology, honeybee behavior and quality control of honeybee products. By summarizing these mandibular gland related researches, we aim to provide insights for further study in the functional mechanisms of mandibular gland secretion, the molecular mechanisms of biosynthesis pathway and other related areas.

Key words: Honey bee; mandibular gland secretions; fatty acids; caste difference; biosynthesis route

蜜蜂作为一种重要的经济昆虫和模式生物(郑火青和胡福良，2009)，具有很高的经济价值和生态价值。上颚腺是蜜蜂头部一个重要的外分泌腺体，其分泌物在蜂群中发挥着极为重要的作用，并有显著的级型特异性(Plettner *et al*., 1997)。蜂王上颚腺的分泌物包含多种信息素，是蜂群内交流的一种

基金项目：国家自然科学青年基金项目(31101773)；浙江省重大科技专项(2012C12906-19)

作者简介：吴雨祺，男，1991年12月生，浙江杭州人，博士研究生，研究方向为蜜蜂科学，E-mail：hzhzwuyuqi@163.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail：hqzheng@zju.edu.cn

收稿日期 Received：2015-04-01；接受日期 Accepted：2015-06-24

重要的"化学语言",在蜂群管理和调控等多方面起着重要作用(曾志将, 2007);工蜂上颚腺是蜂王浆中大量脂肪酸的主要来源(Barker *et al*., 1959),是蜂王浆多种生物学功能的物质基础(Li *et al*., 2013),具有很高的营养学价值。

蜜蜂上颚腺是蜜蜂学研究领域的一个热点。自20世纪60年代Barker等(1959)和Johnston等(1965)开始对蜜蜂上颚腺进行研究以来,已有50多年的研究历史,是了解最为丰富、详实的昆虫腺体之一。针对蜜蜂上颚腺分泌物的研究在蜜蜂生物学、蜂产品质量控制、社会性昆虫个体间联系、蜂群饲养管理与生产等方面具有重要意义。本文对西方蜜蜂上颚腺的结构,分泌物的组成、功能和合成途径以及相关分子生物学研究等的已有报道进行综述,以期为相关领域的进一步研究提供借鉴。

1 蜜蜂上颚腺的结构

蜜蜂上颚腺是一对大型囊状的外分泌腺体,位于蜜蜂头部的内表面两侧,一端与上颚基部紧密连接,同时开口于蜜蜂上颚,另一端则与触角基部和大脑视叶相接。上颚腺结构包括分泌部和储液囊两部分,腺体内衬有角质层。分泌部由大量的腺小体组成,腺小体又由腺管细胞和多核腺细胞构成。多核腺细胞是上颚腺最主要的分泌细胞,内有大量线粒体、核糖体和粗面内质网,以及少量滑面内质网和高尔基体。腺管细胞和多核腺细胞通过长的带状桥粒(long septate desmosome)相连,而多核腺细胞之间则通过短桥粒(short desmosome)或间隙连接(gap junction)相连(Dehazan *et al*., 1989; Vallet *et al*., 1991)。

形态学研究显示,工蜂上颚腺不随日龄而发生明显变化,但腺细胞内部的细胞器会有一定改变(Vallet *et al*., 1991)。蜂王和工蜂上颚腺的结构相类似,但蜂王上颚腺更加发达,腺细胞的细胞器随功能不同而有相应的改变(Dehazan *et al*., 1989);相较而言,雄蜂上颚腺结构简单,体积远小于蜂王与工蜂的上颚腺(Lensky *et al*., 1985)。

2 蜜蜂上颚腺分泌物的组成和功能

2.1 三型蜂上颚腺分泌物的主要成分和功能

在正常蜂群中,职能截然不同的三型蜂——蜂王、工蜂和雄蜂,上颚腺分泌物的组成与功能有着明显的区别,表现出典型的级型特异性。

2.1.1 蜂王上颚腺:在蜂王漫长的一生中,其上颚腺的分泌能力可分为3个阶段:第1阶段是刚出房的处女王,此阶段蜂王的上颚腺没有明显活动,也不表现出吸引工蜂的能力;第2阶段是5日龄到18个月的蜂王,这一阶段蜂王对工蜂展现出极强的吸引力,上颚腺分泌旺盛;最后一阶段是18个月以后,蜂王对蜂群的掌控力逐步下降,上颚腺分泌能力降低。且这一系列变化与蜂王上颚腺的细胞结构变化相一致(Dehazan *et al*., 1989)。此外,蜂王上颚腺的分泌能力还受交尾行为影响(Nino *et al*., 2013)。

蜂王上颚腺的功能性分泌物主要是9-羰基-2癸烯酸[9-keto-2(*E*)-decenoic acid,9-ODA],还包括正式和反式9-羟基-2癸烯酸[(*R*,*S*)-9-hydroxy-2(*E*)-decenoic acid,(*R*,*S*)-9-HDA]、对羟基苯甲酸甲酯(methyl-*p*-hydroxybenzoate, HOB)、4-羟基-3-甲氧基苯乙醇(4-hydroxy-3-methoxyphenylethanol, HVA)等(Slessor *et al*., 1988, 1990)(图1),这些物质统称为蜂王上颚腺信息素(queen mandibular pheromone, QMP),其在蜂群发展和群内调控中发挥极其重要的作用。此外,蜂王上颚腺还会分泌少量ω位功能化脂肪酸(Plettner *et al*., 1997)。

蜂王通过QMP抑制工蜂卵巢的发育,维持群内生殖阶级稳定(Hoover *et al*., 2003; Tan *et al*., 2015)。其可通过抑制蜂群育王,从而控制分蜂热(Trhlin and Rajchard, 2011);而在分蜂过程中,9-HDA具有维持工蜂聚团的能力(Winston *et al*., 1982)。郑火青(2009)研究发现,意大利蜜蜂 *Apis mellifera ligustica* 多王群内的蜂王分泌的QMP比单王群蜂王多,显示QMP与生殖竞争息息相关。此外,对于非社会性昆虫黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 而言,QMP也能产生相似的卵巢抑制效果(Camiletti *et al*., 2013)。

QMP不仅影响蜂群的生殖竞争,工蜂的诸多巢内行为也受其调控。不同条件下,如QMP存在与否、蜂王是否交尾等,工蜂的筑脾量和所筑造的巢房类型都会发生明显的变化(Ledoux *et al*., 2001);群内劳动分工,即内勤蜂和采集蜂的年龄结构、组成比例亦受其影响,且可能是通过作用于工蜂体内保幼激素的含量而发挥作用(Robinson *et al*., 1992; Pankiw *et al*., 1998)。在食物缺乏的条件下,QMP处理的工蜂存活时间较对照组要长,且处理组的脂肪体含量和脂肪体内卵黄蛋白原基因的表达量较高(Fischer and Grozinger, 2008)。有研究表明,QMP中的HVA组分对蜜蜂脑部多巴胺滴度、多巴胺受体基因的表达丰度有影响(Beggs *et al*., 2007);进一步

研究发现,QMP 对多巴胺的影响会造成工蜂厌恶性学习能力的丧失,这可能与蜂王的自我保护机制有关(Vergoz *et al.*, 2007)。

QMP 中的关键组分 9-ODA 在蜂王和雄蜂的信息交流中有重要作用,起着性信息素的功能,可在较长距离实现异性相吸(Brandstaetter *et al.*, 2014)。9-HDA 和 10-HDA 能增强 9-ODA 对雄蜂的吸引力,此二者结合,还具有在近距离起到异性吸引的效果(Brockmann *et al.*, 2006)。而在蜂群失王之后,海角蜂 *Apis mellifera capensis* 工蜂上颚腺通过分泌 9-ODA 来相互抑制卵巢发育,彼此竞争(Moritz *et al.*, 2000)。

此外,蜂王随行信息素(queen retinue pheromone, QRP)是蜂群中另一种重要的蜂王信息素,主要由 QMP 的 5 种成分(Slessor *et al.*, 1988)和其他辅助成分组成(Keeling *et al.*, 2003)。QRP 能够吸引工蜂围绕跟随蜂王,促使工蜂对蜂王嗜舔,且该行为是蜂王信息素在蜂群内传播的一种关键途径(Naumann *et al.*, 1991)。

图 1　蜂王上颚腺分泌物主要成分

Fig. 1　Major components in the mandibular gland secretion of honeybee queen

2.1.2　工蜂上颚腺:虽然工蜂和蜂王的上颚腺结构相似,但其分泌物的组成和功能差别极大。工蜂上颚腺分泌物的信息素类功能并不突出,而在蜂群营养等方面发挥着关键作用。

工蜂上颚腺分泌物的主要成分为 10-羟基-2 癸烯酸[10-hydroxy-2(*E*)-decenoic acid, 10-HDA]、10-羟基癸酸[10-hydroxy-decanoic acid, 10-HDAA]和 8-羟基辛酸[8-hydroxyoctanoic acid, 8-HOAA]等 ω 位功能化脂肪酸(图 2)。针对工蜂上颚腺分泌规律的研究发现,上颚腺中 10-HDA 的含量随日龄增长逐渐递增(黄少康等, 2010),这与上颚腺的发育变化相一致(Vallet *et al.*, 1991)。

工蜂上颚腺是蜂王浆中脂肪酸成分的最主要来源(Isidorov *et al.*, 2009),对蜂王浆的品质有着极大影响。蜂王浆是工蜂上颚腺、咽下腺和唾液腺共同分泌的一种蜜蜂产品,在蜂群中主要被用于饲喂蜂王、蜂王幼虫和 3 日龄以内工蜂幼虫,其脂肪酸成分在蜂群营养(Crailsheim, 1992)和幼虫发育(Kinoshita and Shuel, 1975)等方面有重要作用。同时,蜂王浆作为一种高价值的保健食品,其中的脂肪酸还具有抗菌(Blum *et al.*, 1959)、免疫调节、抗癌症(Li *et al.*, 2013)、调节细胞生长和分化(Koya-Miyata *et al.*, 2004; Hattori *et al.*, 2007)、降血脂(许东晖等, 2002)等功能。此外,工蜂还将 10-HDA 掺入到食物中(Isidorov *et al.*, 2011),以抑制花粉萌发(Iwanami *et al.*, 1979)和细菌增殖(Eshraghi and Seifollahi, 2003)。

随着年龄和劳动分工的变化,工蜂上颚腺还能合成 2-庚酮(2-heptanone),这一物质可能在蜜蜂的采集活动中作为一种标记,使同伴不会在短时间内重复光顾已经访问过的花朵,提升效率(Boch *et al.*, 1970; Vallet *et al.*, 1991)。还有学者发现 2-庚酮具有麻醉功能(Papachristoforou *et al.*, 2012)。

工蜂上颚腺分泌物组分虽然以 ω 位功能化脂肪酸为主,但也能检测到少量的 ω-1 位功能化脂肪酸(Plettner *et al.*, 1997)。Johnson 等(1965)提出工蜂上颚腺分泌的 9-HDA 和蜂王分泌的 9-ODA 可能构成一种循环:蜂王合成 9-ODA 传递给工蜂后,被代谢成为 9-HDA 或 9-HDAA,再通过食物饲喂给蜂王,作为 9-ODA 合成的前体。Maisonnasse 等(2010)研究发现,蜂王去除上颚腺后,头部无法检出 9-ODA,但仍存在少量 9-HDA,显示 9-HDA 除通过上颚腺合成外还有其他来源,但不能确定是否来自于蜂王的食物。而 Zheng 等(2010)发现南非特有的海角蜂 *A. m. capensis* 工蜂上颚腺中最主要的脂肪酸是 9-HDA,且部分工蜂上颚腺中能检测到少量 9-ODA。

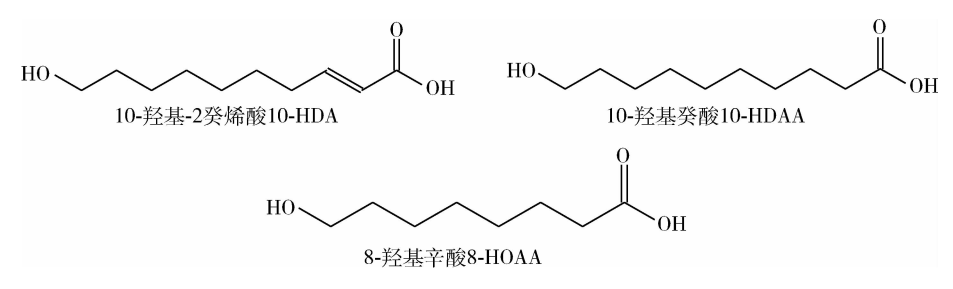


图 2　工蜂上颚腺分泌物主要成分

Fig. 2　Major components in the mandibular gland secretion of honeybee worker

2.1.3　雄蜂上颚腺：目前，关于雄蜂上颚腺的报道较少。仅有 Lensky 等(1985)研究发现，雄蜂上颚腺提取物具有吸引雄蜂的功能，但尚不清楚是何种组分发挥作用。

2.2　不同蜂种的上颚腺分泌物组分差异

除级型间的较大差异外，不同蜂种的上颚腺分泌物组成也不尽相同，这可能和蜜蜂的进化与习性相关。Plettner 等(1997)研究了西方蜜蜂 *Apis mellifera*、大蜜蜂 *Apis dorsata*、小蜜蜂 *Apis florea*、黑小蜜蜂 *Apis andreniformis* 和东方蜜蜂 *Apis cerana* 的蜂王与工蜂上颚腺分泌物的成分及含量，发现不同蜂种的工蜂间有明显差异。大蜜蜂和西方蜜蜂的分泌物成分以 10-HDA 为主；小蜜蜂则以 8-HOAA 和 10-HDA 为主，且二者含量相近；黑小蜜蜂与小蜜蜂一样，有着等量的 8-HOAA 和 10-HDA，但其上颚腺中 9-ODA 比例最高；同时大蜜蜂、小蜜蜂和黑小蜜蜂上颚腺均能检出 9-ODA；东方蜜蜂上颚腺中 3 种 ω 位羟基酸和 9-HDA 的含量没有明显差异。比较工蜂和蜂王上颚腺中 10-HDA 和 9-HDA 的比值发现，营穴居(cavity-nesting)蜂种(如西方蜜蜂、东方蜜蜂)级型间的差异大于营露天(open-nesting)蜂种(如大蜜蜂、小蜜蜂和黑小蜜蜂)。Keeling 等(2000)针对小蜜蜂 *A. florea* 上颚腺的研究显示，蜂王上颚腺中含量最高的成分为 10-HDA，而工蜂上颚腺中以 8-HOAA 为主，同时失王工蜂的上颚腺分泌物并没有向蜂王转变的趋势。Keeling 等(2001)进一步比较了东方蜜蜂 *A. cerana* 和苏拉威西蜂 *Apis nigrocincta* 头部的提取物，结果显示这两个蜂种的上颚腺分泌物间也存在极大差异。

3　蜜蜂上颚腺分泌物的生物合成

3.1　分泌物的生物合成途径与级型差异

Plettner 等(1996, 1998)采用同位素标记对离体上颚腺的脂肪酸代谢进行了研究，从化学合成的角度阐述了上颚腺脂肪酸分泌物的合成过程。研究结果显示，在蜂王和工蜂上颚腺中，脂肪酸分泌物的合成均经过羟基化、β 氧化和功能基团修饰 3 个步骤(图 3)。

在测试多种脂肪酸后，Plettner 等(1995)确定硬脂酸是上颚腺合成分泌物的最适合成前体。其通过进一步研究发现，硬脂酸的来源主要有两种，一是外源性摄入后，直接进入上颚腺参与合成；二是以乙酸等短链脂肪酸为原料，在上颚腺中从头合成(Plettner *et al*., 1998)。

硬脂酸首先在酶的作用下发生 ω 位或 ω-1 位羟基化，这一反应是由细胞色素 P450 催化的单加氧反应，不涉及双键的生成或水解(Plettner *et al*., 1998)，且 ω 位羟基化和 ω-1 位羟基化脂肪酸在上颚腺中不会发生相互转化。通过比较上颚腺中 ω 位羟基化和 ω-1 位羟基化产物的积累量发现，工蜂与蜂王上颚腺中二者的生成速率无显著差异(Plettner *et al*., 1996)，表明羟基化的位点并不具备级型特异性。羟基脂肪酸随后进入不完全的 β-氧化过程，在体外实验竞争性抑制剂的作用下，上颚腺中 C12 脂肪酸和 C18 脂肪酸会出现明显的累积，Plettner 等(1996)由此判断羟基脂肪酸的 β-氧化的过程中可能有两套不同的酶负责催化不同长度的脂肪酸。最后，部分脂肪酸末端的羟基被进一步氧化，生成酮酸或二酸。

Plettner 等(1998)在研究上颚腺中脂肪酸相互转化过程中发现，蜜蜂的不同级型之间存在着明显差异：工蜂能实现 9-HDAA 和 9-HDA 间相互转化，且可以将 10-HDAA 延长生成 10-羟基月桂酸；处女王不能将 10-HDA 还原成 10-HDAA 或进一步降解成 8-HOAA；而蜂王只能将 9-HDAA 脱饱和生成 9-HDA，不具备延长 9-HDAA 的能力，且蜂王上颚腺中 β-氧化过程不可逆。这些结果显示级型间上颚腺脂肪酸代谢相关酶有着一定的差异。基于上述研究成果可以推测，合成途径中导致级型差异的关键步骤不是脂肪酸的羟基化，而更有可能是脂肪酸的 β-氧化过程。

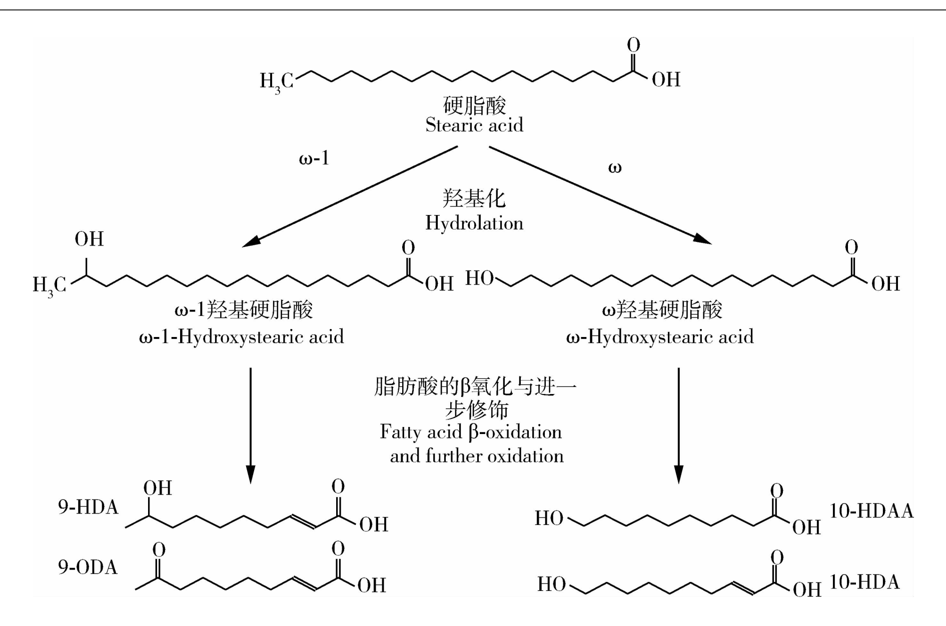


图 3　蜜蜂上颚腺分泌物基本合成途径(改自 Plettner *et al*., 1996)

Fig. 3　Biosynthesis pathways of honeybee mandibular gland secretions (adapted from Plettner *et al*., 1996)

3.2　分泌物组成的级型间可塑性

正常情况下,上颚腺分泌物的组成有着明显的级型特异性,但并非一成不变,随环境和职能的变化,其成分也会发生相应的改变,具有从类工蜂组分向类蜂王组分转变的可塑性。

在长期失王条件下,部分工蜂的卵巢会开始发育并产下雄蜂卵(Miller and Ratnieks, 2001),通过分析产卵工蜂的上颚腺发现,其中 10-HDAA 与 9-HDA 之比有向蜂王转变的趋势(Plettner *et al*., 1993),分泌出类蜂王的物质。海角蜂 *A. m. capensis* 更是表现出极强的级型间可塑性,其工蜂会入侵其他蜂种的蜂巢,在蜂王存在的情况下,发育成假蜂王,分泌蜂王信息素并开始产卵(Neumann and Moritz, 2002)。Tan 等(2015)发现不同蜂种的可塑性有一定区别,失王条件下,东方蜜蜂 *A. cerana* 产卵工蜂上颚腺中 9-HDA 和 9-ODA 含量的变化和(9-ODA)/(9-ODA + 9-HDA + 10-HDAA + 10-HDA)的比值要显著高于西方蜜蜂 *A. mellifera* 产卵工蜂。

上颚腺分泌能力的变化和卵巢的发育之间虽然经常表现出一致性,但其二者是否相关还有争议。在对西方蜜蜂 *A. mellifera* 失王群的研究发现,蜂群中有能吸引工蜂随侍的假蜂王,也有不吸引其他工蜂的产卵工蜂,这二者的卵巢发育情况近似,但上颚腺分泌物存在差异,假蜂王更接近于蜂王的分泌物(Plettner *et al*., 1993)。有学者提出,卵巢发育可能受到个体上颚腺分泌量在整个群体中水平的影响,而非上颚腺的绝对分泌量(Velthuis *et al*., 1990)。

以上研究结果说明,蜜蜂上颚腺分泌物的合成过程通常表现出典型的级型特异性,但当受到个体发育和蜂群社会状态等因素影响时,也能表现出较强的可塑性。

4　蜜蜂上颚腺相关的基因组和蛋白质组学研究

除通过化学手段对上颚腺进行研究外,诸多学者对上颚腺中的蛋白质和相关基因表达情况进行了探究,试图从分子水平揭示不同级型间上颚腺的差异。

Malka 等(2009)对通过检测有王群工蜂、无王群工蜂和蜂王上颚腺中细胞色素 P450(cytochrome P450, CYP450)家族的 CYP4AA1(负责 ω 位羟基化)和 CYP18A1(负责 ω-1 位羟基化)的基因表达情况,以探究合成途径中脂肪酸羟基化的步骤。结果显示,*CYP4AA*1 基因在两种工蜂中均有高表达,而在蜂王中表达量较低;而 *CYP18A*1 基因在蜂王中高表达,在工蜂中低表达,同时无王群工蜂的表达量要高于有王群工蜂,显示脂肪酸 ω-羟基化的差异可能是造成上颚腺分泌物级型差异的原因。Hasegawa 等(2009)对工蜂和蜂王上颚腺的蛋白表达量进行比较,发现乙醛脱氢酶(acetaldehyde dehydrogenase, ADLH)、中链脂酰辅酶 A 脱氢酶(medium chain acyl coenzyme A dehydrogenase, MCAD)和电子转运黄素蛋白(electron transfer flavoprotein α, ETFα)在蜂王上颚腺中特异性高表达,而脂肪酸合酶(fatty acid

synthase, FAS)则在工蜂上颚腺中具有较高表达;进一步使用荧光定量 PCR 验证这 4 种蛋白相关基因在工蜂和蜂王上颚腺中的表达情况显示,*adlh*1 基因与 *adlh* 基因家族中的 *adlh*3,*adlh*6 和 *adlh*7 基因在蜂王上颚腺中显著高表达,而 *fas* 基因在工蜂上颚腺中显著高表达,*mcad* 和 *etfα* 基因的表达则无差异。该结果进一步表明蜜蜂上颚腺中脂肪酸相关新陈代谢过程在级型间存在差异。

气味结合蛋白(odorant binding protein, OBP)和化学感受蛋白(chemosensory protein, CSP)是两类重要的化学结合蛋白,有着复杂而多样的功能,诸多研究显示其在昆虫性信息素腺体中表达,因而有学者认为这些蛋白可能参与信息素的运输与释放(Li *et al.*, 2008)。Iovinella 等(2011)对各级型、不同日龄蜜蜂上颚腺中 OBPs 和 CSPs 的表达情况进行了比较分析,结果显示级型和不同日龄蜜蜂上颚腺中的 OBPs 和 CSPs 蛋白组成存在差异,表明这些蛋白可能与蜜蜂上颚腺信息素的运输和释放相关。

此外,随着基因组测序的发展,有学者尝试对蜜蜂上颚腺的基因表达谱进行全面研究。Malka 等(2014)使用基因芯片,对西方蜜蜂 *A. mellifera* 处女王、正常工蜂、失王后卵巢发育的工蜂和失王后卵巢未激活工蜂的上颚腺基因表达谱进行了比较,发现了多个可能参与蜜蜂上颚腺分泌物合成并造成分泌物级型差异的关键基因,涉及脂肪酸的合成、羟基化、转运、β-氧化等多个过程;同时发现级型、外界环境和个体生殖状态等因素会影响上颚腺基因的表达模式,其中级型差异是最主要的影响因素。

此外,黄少康等(2007)对中华蜜蜂 *A. c. cerana* 和意大利蜜蜂 *A. m. ligustica* 的外勤工蜂、初出房蜂王和巢内雄蜂的上颚腺蛋白进行研究,通过蛋白定量和 SDS-PAGE 分析,发现不同蜂种和级型间在蛋白总量和蛋白质组成上有明显差异。荆战星(2010)进一步使用双向电泳比较不同日龄工蜂上颚腺蛋白质的组成,发现有大量的差异蛋白点。张翔(2014)使用蛋白组学手段,比较了 0 日龄工蜂和 25 日龄工蜂上颚腺蛋白差异,分离和鉴定出多个差异蛋白点,这些蛋白参与了脂肪酸代谢、碳水化合物和能量代谢等多个代谢通路。

5 小结与展望

蜜蜂上颚腺分泌物的组成和功能性研究已有 50 多年的历史,在 QMP 和蜂王浆脂肪酸在蜂群中的功能等方面虽已取得大量成果,但仍缺乏机理性探究,通过研究上颚腺分泌物对蜜蜂个体激素分泌、基因表达的影响,深入探索上颚腺分泌物的作用机理,能让我们更加深入地了解蜜蜂,也能为蜂群的饲养和管理提供理论基础;上颚腺与蜜蜂的生殖竞争和生殖分工有密切关系,深入研究不同环境对蜜蜂上颚腺分泌物组成和分泌能力的影响,以及相关分子调控机制,能让我们更好地了解蜂群生殖分工的调控,为社会性昆虫社会结构的形成及其维持机制的研究提供全新视角;不同蜂种上颚腺分泌物的组成有着一定的差异,通过结合上颚腺分泌物的功能与不同蜂种蜜蜂的生物学差异,深入探究造成这些差异的可能原因和这些差异的可能作用,有助于加深对社会性昆虫社会性进化机制的了解。

对上颚腺中脂肪酸合成途径的研究显示,蜂王和工蜂上颚腺合成过程中的差异,使得其分泌物主要成分产生了差异。对蜂王和工蜂上颚腺分泌物合成途径进行更深入的研究,能揭示和发现蜜蜂生物学中一些未知的内容,丰富对昆虫脂肪酸代谢过程调控机制和昆虫信息素合成机制的了解,还能为旨在提高高产王浆蜂种 10-HDA 含量的蜜蜂分子育种工作提供参考。同时除西方蜜蜂外,对其他蜂种的上颚腺信息素合成途径相关研究仍是一片空白,而不同蜂种上颚腺分泌物组成的不同显示其生物合成途径可能有着一定的差异,值得深入研究和探索。

蜜蜂基因组计划的完成和分子生物学相关技术的发展,使得通过蛋白质组和转录组等分子手段研究蜜蜂上颚腺的蛋白质组成和基因表达差异成为可能,通过比较不同日龄或不同劳动分工的工蜂上颚腺基因和蛋白表达差异,使我们能更加深入地了解上颚腺发育方式和调控机制,而通过比较级型间与蜂种间上颚腺基因和蛋白的表达差异,能进一步揭示上颚腺级型和蜂种间差异的内在机理,为相关领域的研究提供有价值的信息。

参考文献(References)

Barker SA, Foster AB, Lamb DC, Jackman LM, 1959. Biological origin and configuration of 10-hydroxy-delta-2-decenoic acid. *Nature*, 184(4686): 634.

Beggs KT, Glendining KA, Marechal NM, Vergoz V, Nakamura I, Slessor KN, Mercer AR, 2007. Queen pheromone modulates brain dopamine function in worker honey bees. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104(7): 2460 – 2464.

Blum MS, Novak AF, Taber S, 1959. 10-Hydroxy-delta2-decenoic acid, an antibiotic found in royal jelly. *Science*, 130(3373): 452 – 453.

Boch R, Shearer DA, Petrasovits A, 1970. Efficacies of two alarm substances of the honey bee. *J. Insect Physiol.*, 16(1): 17 – 24.

Brandstaetter AS, Bastin F, Sandoz JC, 2014. Honeybee drones are attracted by groups of consexuals in a walking simulator. *J. Exp. Biol.*, 217(8): 1278 – 1285.

Brockmann A, Dietz D, Spaethe J, Tautz J, 2006. Beyond 9-ODA: sex pheromone communication in the european honey bee *Apis mellifera* L. *J. Chem. Ecol.*, 32(3): 657 – 667.

Camiletti AL, Percival-Smith A, Thompson GJ, 2013. Honey bee queen mandibular pheromone inhibits ovary development and fecundity in a fruit fly. *Entomol. Exp. Appl.*, 147(3): 262 – 268.

Crailsheim K, 1992. The flow of jelly within a honeybee colony. *J. Comp. Physiol. B*, 162(8): 681 – 689.

Dehazan M, Hyams J, Lensky Y, Cassier P, 1989. Ultrastructure and ontogeny of the mandibular glands of the queen honey bee, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae). *Int. J. Insect Morphol.*, 18 (5 – 6): 311 – 320.

Eshraghi S, Seifollahi F, 2003. Antibacterial effects of royal jelly on different strains of bacteria. *Iran. J. Public Health*, 32(1): 25 – 30.

Fischer P, Grozinger CM, 2008. Pheromonal regulation of starvation resistance in honey bee workers (*Apis mellifera*). *Naturwissenschaften*, 95(8): 723 – 729.

Hasegawa M, Asanuma S, Fujiyuki T, Kiya T, Sasak T, Endo D, Morioka M, Kubo T, 2009. Differential gene expression in the mandibular glands of queen and worker honeybees, *Apis mellifera* L.: implications for caste-selective aldehyde and fatty acid metabolism. *Insect Biochem. Molec. Biol.*, 39(10): 661 – 667.

Hattori N, Nomoto H, Fukumitsu H, Mishima a, Furukawa S, 2007. Royal jelly and its unique fatty acid, 10-hydroxy-*trans*-2-decenoic acid, promote neurogenesis by neural stem/progenitor cells *in vitro*. *Biomedical Research*, 28(5): 261 – 266.

Hoover SER, Keeling CI, Winston ML, Slessor KN, 2003. The effect of queen pheromones on worker honey bee ovary development. *Naturwissenschaften*, 90(10): 477 – 480.

Huang SK, Jing ZX, Li SM, Jiang XH, Ma J, 2010. Secretion pattern of 10-HDA from mandibular gland of honeybee worker at different ages. *Straits Science*, (10): 231 – 237. [黄少康，荆战星，李三妹，蒋星宏，马静，2010. 不同日龄意蜂工蜂上颚腺 10-HDA 分泌规律研究. 海峡科学，(10): 231 – 237]

Huang SK, Ma C, Zhang ZR, 2007. Comparison of mandibular gland protein between three castes of *Apis cerana cerana* and *Apis mellifera ligustica*. *Journal of Bee*, 27(5): 3 – 5. [黄少康，马超，张招荣，2007. 中蜂和意蜂三型蜂上颚腺蛋白的比较研究. 蜜蜂杂志，27(5): 3 – 5]

Iovinella I, Dani FR, Niccolini A, Sagona S, Michelucci E, Gazzano A, Turillazzi S, Felicioli A, Pelosi P, 2011. Differential expression of odorant-binding proteins in the mandibular glands of the honey bee according to caste and age. *J. Proteome Res.*, 10(8): 3439 – 3449.

Isidorov VA, Czyzewska U, Isidorova AG, Bakier S, 2009. Gas chromatographic and mass spectrometric characterization of the organic acids extracted from some preparations containing lyophilized royal jelly. *J. Chromatogr. B*, 877(29): 3776 – 3780.

Isidorov VA, Czyzewska U, Jankowska E, Bakier S, 2011. Determination of royal jelly acids in honey. *Food Chem.*, 124(1): 387 – 391.

Iwanami Y, Okada I, Iwamatsu M, Iwadare T, 1979. Inhibitory effects of royal jelly acid, myrmicacin, and their analogous compounds on pollen germination, pollen-tube elongation, and pollen-tube mitosis. *Cell Struct. Funct.*, 4(2): 135 – 143.

Jing ZX, 2010. Secretion of 10-HDA from Mandibular Gland of Hongeybee Worker (*Apis mellifera ligustica*) and the Gland Proteins. MSc Thesis, Fujian Agriculture and Forest University, Fuzhou. [荆战星，2010. 意大利蜜蜂(*Apis mellifera ligustica*)工蜂上颚腺 10-HDA 分泌规律及腺体蛋白研究. 福州：福建农林大学硕士学位论文]

Johnston NC, Law JH, Weaver N, 1965. Metabolism of 9-ketodec-2-enoic acid by worker honeybees (*Apis mellifera* L.). *Biochemistry*, 4(8): 1615 – 1621.

Keeling CI, Otis GW, Hadisoesilo S, Slessor KN, 2001. Mandibular gland component analysis in the head extracts of *Apis cerana* and *Apis nigrocincta*. *Apidologie*, 32(3): 243 – 252.

Keeling CI, Slessor KN, Higo HA, Winston ML, 2003. New components of the honey bee (*Apis mellifera* L.) queen retinue pheromone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100(8): 4486 – 4491.

Keeling CI, Slessor KN, Koeniger N, Koeniger G, Punchihewa RWK, 2000. Quantitative analysis of the mandibular gland components of the dwarf honey bee (*Apis florea* Fabricius). *Apidologie*, 31(2): 293 – 299.

Kinoshita G, Shuel RW, 1975. Mode of action of royal jelly in honeybee development. X. Some aspects of lipid nutrition. *Can. J. Zool.*, 53 (3): 311 – 319.

Koya-Miyata S, Okamoto I, Ushio S, Iwaki K, Ikeda M, Kurimoto M, 2004. Identification of a collagen production-promoting factor from an extract of royal jelly and its possible mechanism. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 68(4): 767 – 773.

Ledoux MN, Winston ML, Higo H, Keeling CI, Slessor KN, Le Conte Y, 2001. Queen pheromonal factors influencing comb construction by simulated honey bee (*Apis mellifera* L.) swarms. *Insectes Sociaux*, 48(1): 14 – 20.

Lensky Y, Cassier P, Notkin M, Delormejoulie C, Levinsohn M, 1985. Pheromonal activity and fine-structure of the mandibular glands of honeybee drones (*Apis mellifera* L.) (Insecta, Hymenoptera, Apidae). *J. Insect Physiol.*, 31(4): 265 – 276.

Li S, Picimbon JF, Ji S, Kan Y, Chuanling Q, Zhou JJ, Pelosi P, 2008. Multiple functions of an odorant-binding protein in the mosquito *Aedes aegypti*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 372 (3): 464 – 468.

Li XA, Huang CQ, Xue YB, 2013. Contribution of lipids in honeybee (*Apis mellifera*) royal jelly to health. *J. Med. Food*, 16(2): 96 – 102.

Maisonnasse A, Alaux C, Beslay D, Crauser D, Gines C, Plettner E, Le Conte Y, 2010. New insights into honey bee (*Apis mellifera*) pheromone communication. Is the queen mandibular pheromone alone in colony regulation? *Front. Zool.*, 7: 18 – 26.

Malka O, Karunker I, Yeheskel A, Morin S, Hefetz A, 2009. The gene road to royalty-differential expression of hydroxylating genes in the mandibular glands of the honeybee. *FEBS J.*, 276(19): 5481 – 5490.

Malka O, Nino EL, Grozinger CM, Hefetz A, 2014. Genomic analysis of the interactions between social environment and social communication systems in honey bees (*Apis mellifera*). *Insect Biochem. Molec. Biol.*, 47: 36–45.

Miller DG, Ratnieks FLW, 2001. The timing of worker reproduction and breakdown of policing behaviour in queenless honey bee (*Apis mellifera* L.) societies. *Insectes Sociaux*, 48(2): 178–184.

Moritz RFA, Simon UE, Crewe RM, 2000. Pheromonal contest between honeybee workers (*Apis mellifera capensis*). *Naturwissenschaften*, 87(9): 395–397.

Naumann K, Winston ML, Slessor KN, Prestwich GD, Webster FX, 1991. Production and transmission of honeybee queen (*Apis mellifera* L.) mandibular gland pheromone. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 29(5): 321–332.

Neumann P, Moritz RFA, 2002. The Cape honeybee phenomenon: the sympatric evolution of a social parasite in real time? *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 52(4): 271–281.

Nino EL, Malka O, Hefetz A, Tarpy DR, Grozinger CM, 2013. Chemical profiles of two pheromone glands are differentially regulated by distinct mating factors in honey bee queens (*Apis mellifera* L.). *PLoS ONE*, 8(11): e78637.

Pankiw T, Huang ZY, Winston ML, Robinson GE, 1998. Queen mandibular gland pheromone influences worker honey bee (*Apis mellifera* L.) foraging ontogeny and juvenile hormone titers. *J. Insect Physiol.*, 44(7–8): 685–692.

Papachristoforou A, Kagiava A, Papaefthimiou C, Termentzi A, Fokialakis N, Skaltsounis AL, Watkins M, Arnold G, Theophilidis G, 2012. The bite of the honeybee: 2-heptanone secreted from honeybee mandibles during a bite acts as a local anaesthetic in insects and mammals. *PLoS ONE*, 7(10): e47432.

Plettner E, Otis GW, Wimalaratne PDC, Winston ML, Slessor KN, Pankiw T, Punchihewa PWK, 1997. Species- and caste-determined mandibular gland signals in honeybees (*Apis*). *J. Chem. Ecol.*, 23(2): 363–377.

Plettner E, Slessor KN, Winston ML, 1998. Biosynthesis of mandibular acids in honey bees (*Apis mellifera*): *de novo* synthesis, route of fatty acid hydroxylation and caste selective β-oxidation. *Insect Biochem. Molec. Biol.*, 28(1): 31–42.

Plettner E, Slessor KN, Winston ML, Oliver JE, 1996. Caste-selective pheromone biosynthesis in honeybees. *Science*, 271(5257): 1851-1853.

Plettner E, Slessor KN, Winston ML, Robinson GE, Page RE, 1993. Mandibular gland components and ovarian development as measures of caste differentiation in the honey-bee (*Apis mellifera* L.). *J. Insect Physiol.*, 39(3): 235–240.

Plettner E, Sutherland GRJ, Slessor KN, Winston ML, 1995. Why not be a queen? Regioselectivity in mandibular secretions of honeybee castes. *J. Chem. Ecol.*, 21(7): 1017–1029.

Robinson GE, Page RE, Strambi C, Strambi A, 1992. Colony integration in honey bees: mechanisms of behavioral reversion. *Ethology*, 90(4): 336–348.

Slessor KN, Kaminski LA, King GGS, Borden JH, Winston ML, 1988. Semiochemical basis of the retinue response to queen honey bees. *Nature*, 332(6162): 354–356.

Slessor KN, Kaminski LA, King GGS, Winston ML, 1990. Semiochemicals of the honeybee queen mandibular glands. *J. Chem. Ecol.*, 16(3): 851–860.

Tan K, Liu X, Dong S, Wang C, Oldroyd BP, 2015. Pheromones affecting ovary activation and ovariole loss in the Asian honey bee *Apis cerana*. *J. Insect Physiol.*, 74: 25–29.

Tan K, Yang M, Wang Z, Radloff SE, Pirk CWW, 2012. The pheromones of laying workers in two honeybee sister species: *Apis cerana* and *Apis mellifera*. *J. Comp. Physiol. A*, 198(4): 319–323.

Trhlin M, Rajchard J, 2011. Chemical communication in the honeybee (*Apis mellifera* L.): a review. *Veterinarni Medicina*, 56(6): 265–273.

Vallet A, Cassier P, Lensky Y, 1991. Ontogeny of the fine-structure of the mandibular glands of the honeybee (*Apis mellifera* L.) workers and the pheromonal activity of 2-heptanone. *J. Insect Physiol.*, 37(11): 789–804.

Velthuis HHW, Ruttne F, Crewe RM. 1990. Differentiation in reproductive physiology and behaviour during the development of laying worker honey bees. In: Wolf E ed. Social Insects. Springer Berlin Heidelberg Press, Berlin, Heidelberg. 231–243.

Vergoz V, Schreurs HA, Mercer AR, 2007. Queen pheromone blocks aversive learning in young worker bees. *Science*, 317(5836): 384–386.

Winston ML, Slessor KN, Smirle MJ, Kandil AA, 1982. The influence of a queen-produced substance, 9HDA, on swarm clustering behavior in the honeybee *Apis mellifera* L. *J. Chem. Ecol.*, 8(10): 1283–1288.

Xu DH, Mei XT, Xu SB, 2002. The research of 10-hydroxy-2-dcenoic acid on experiment hyperlipoidemic rat. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 25(5): 346–347. [许东晖, 梅雪婷, 许实波, 2002. 10-羟基-2-癸烯酸治疗实验性高脂血症大鼠的药理研究. 中药材, 25(5): 346–347]

Zeng ZJ, 2007. The Biology of the Honeybee. China Agriculture Press, Beijing. 66–68. [曾志将, 2007. 蜜蜂生物学. 北京: 中国农业出版社. 66–68]

Zhang X, 2014. Proteomic Analysis of 10-Hydroxy-2-decanoic Acid Biosynthesis on Mandibular Gland of Honeybee Worker (*Apis mellifera* L.). MSc Thesis, Qilu University of Technology, Jinan. [张翔, 2014. 意大利工蜂上颚腺 10-HDA 合成的蛋白质组学研究. 济南: 齐鲁工业大学硕士学位论文]

Zheng HQ, 2009. Reproductive Sharing in Honeybee Colonies. PhD Dissertation, Zhejiang University, Hangzhou. [郑火青, 2009. 蜜蜂群内生殖共享相关特征研究. 杭州: 浙江大学博士学位论文]

Zheng HQ, Dietemann V, Crewe RM, Hepburn R, Hu FL, Yang MX, Pirk CWW, 2010. Pheromonal predisposition to social parasitism in the honeybee *Apis mellifera capensis*. *Behav. Ecol.*, 21(6): 1221–1226.

Zheng HQ, Hu FL, 2009. Honeybee: a newly emerged model organism. *Acta Entomol. Sin.*, 52(2): 210–215. [郑火青, 胡福良, 2009. 蜜蜂——新兴的模式生物. 昆虫学报, 52(2): 210–215]

(责任编辑: 赵利辉)